FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Human
Alpha-1-Antitrypsin
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS505

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Antitrypsin, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. Este anticuerpo resulta útil para la identificación de alfa-1-antitripsina, por ejemplo, en los hepatocitos en la deficiencia de alfa-1-antitripsina (1). La interpretación clínica de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un patólogo calificado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Alfa-1-antitripsina (AAT) es una glucoproteína de 51 kDa que principalmente se sintetiza en el hígado. Es una proteína de fase aguda y funciona como el principal inhibidor de las serina proteasas, tales como las elastasa, colagenasa y quimotripsina de los neutrófilos. Los individuos con niveles genéticamente bajos de AAT sérica presentan riesgo de desarrollar enfisema pulmonar, enfermedad hepática crónica y carcinoma hepatocelular. La forma clásica de deficiencia de AAT se asocia con la acumulación de polímeros AAT en el retículo endoplásmico de las células hepáticas (2, 3).

AAT está presente en hepatocitos normales, histiocitos y monocitos, y en una amplia variedad de tumores de diferenciación epitelial y mesenquimal (2).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: 1) Principio del procedimiento, 2) Material necesario pero no suministrado, 3) Almacenamiento, 4) Preparación de la muestra, 5) Procedimiento de tinción, 6) Control de calidad, 7) Solución de problemas, 8) Interpretación de la tinción, 9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/L de NaN_3.

Inmunógeno

Alfa-1-antitripsina aislada de plasma humano.

Especificidad

El anticuerpo reacciona con la alpha-1-antitripsina humana. Las trazas de anticuerpos contaminantes se eliminaron mediante absorción de la fase sólida con proteínas plasmáticas humanas.

Inmunoelectroforesis cruzada: Solamente aparece el arco de precipitación de alfa-1-antitripsina al utilizar 12,5 µL de Dako número de catálogo A0012 por cm^2 de área de gel frente a 2 µL de plasma humano. Tinción: Coomassie Brilliant Blue.

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida de sodio (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución que no se utilice deberá desecharse de acuerdo con las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 ℃. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobarlas. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán analizarse de manera simultánea con las muestras de pacientes. En caso de observarse una coloración inesperada que no pueda explicarse por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche de la existencia de un problema con un anticuerpo, contáctese con la Asistencia Técnica de Dako.

Preparación de las muestras, incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004).

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción, incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus, utilizando los siguientes protocolos:

Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de aplicación 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de aplicación 300 µL)
Autoprogram: AAT (sin contratinción) o AATH (con contratinción)

El paso auxiliar debe configurarse a “tampón de enjuague” en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. En el caso de sesiones de tinción con >10 portaobjetos, el paso auxiliar debe configurarse a “ninguno”. De esta manera se aseguran tiempos de lavado semejantes.

Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspondiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en el instrumento Dako Autostainer utilizado, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el rendimiento del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en “Características de resultados”.

Se recomienda la contratinción con hematoxicilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras de pacientes. El control positivo de tejido debe incluir amígdala e hígado, y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para este tejido en “Características de resultados” en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Rabbit (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS600).

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular es citoplasmático.

Características de resultados

Tejidos normales: El anticuerpo marca hepatocitos normales (1) y leucocitos polimorfonucleares, monocitos y sus precursores. Los linfocitos, las células E en roseta, los linfocitos activados con Con A, linfocitos citolíticos espontáneos, eritrocitos y megacariocitos son negativos (4).

Tejidos anormales: En 13 pacientes con diferentes enfermedades hepáticas, el anticuerpo marcó los hepatocitos con y sin glóbulos AAT. En muestras con glóbulos, se puede usar una dilución mayor del anticuerpo, que indica una mayor concentración de AAT en estas muestras (1).

Referencias bibliográficas

1. Clausen PP. Immunohistochemical demonstration of alpha-1-antitrypsin in liver tissue. A methodological investigation. Acta path microbiol scand Sect A 1980;88:299–306.
2. Leong ASY, Cooper K, Leong FJWM. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Oxford University Press;1999.p. 7–8.
3. Perlmutter DH. Liver injury in α1-antitrypsin deficiency: an aggregated protein induces mitochondrial injury. J Clin Invest 2002;110:1579–83.
4. Hau J, Nilsson M, Skovgaard-Jensen H-J, de Souza A, Eriksen E, Wandall LT. Analysis of animal serum proteins using antisera against human analogous proteins. Scand J Lab Anim Sci 1990;17:3–7.

Explicación de los símbolos

REF	Referencia	2 °C – 8 °C	Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Σ	Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso	LOT	Código del lote		

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17